川楝素对菜青虫中肠组织的影响

张 兴* 赵善欢 (华南农业大学。广州 510642)

川楝素是从楝属植物树皮中提取出来的一种三萜烯类物质。 过去主要作为医用药品驱除人 体 蛔虫,后来发现具有杀虫活性,已有较全面的综述(赵善欢和张兴,1987)。在杀虫作用研究中曾发现,川楝素对菜青虫(Pieris rapae L.) 具有高的生物活性(赵善欢等,1985;张兴等,1988),可应用于田间防治。为了揭示川楝素对菜青虫幼虫致毒作用的毒理机制,曾从生理、生化等方面作了研究,本文主要报道对中肠组织病变的观察结果。

材料和方法

川楝素纯品:天津南开大学元素所出品。

菜青虫幼虫: 从田间采回菜青虫幼虫,在室内饲养两天以上,挑取发育正常的五龄前期幼虫供试。 试验中均用甘蓝叶作为饲料。

石蜡切片观察:用 400 ppm 川棣素丙酮液浸渍叶碟(ϕ 1.2cm)一秒钟,晾干。于培养皿中置一片叶碟、一头幼虫,待取食完处理叶碟后 24、48、60、80、96 小时,分别挑出试虫,用 Bouin 固定液固定 20小时。然后从第二对胸足后与第一对腹足前剪断,取用中间部位并再固定 4小时。用水冲洗多次并在70%酒精中浸泡过夜。用常规方法脱水、透明、浸蜡、包埋、切片(6—7 微米)。用苏木精、伊红双重染色法染色,封片、干燥后用光学显微镜进行观察。

超微结构观察: 用同上方法处理试虫,24 小时后挑取已取食并中毒的幼虫,解剖出中肠用常规方法制作电子显微镜观察标本后,用透射电子显微镜(菲利浦 EM-400)进行观察。

结果和讨论

石蜡切片观察结果表明,菜青虫幼虫取食川楝素 24 小时后,中肠组织开始发生变化,但以 48 小时以后的病变较为明显(图版 I:3)。处理试虫的围食膜消失,肠内有大量食物残渣滞留,肠内壁微绒毛消失,食物和肠细胞直接接触甚至可穿透中肠细胞层(图版I:4)。 中肠细胞的病变表现为先稍加厚,变得无明显细胞层次,继而局部脱落,在中肠内食物中可发现脱落的中肠细胞组织残片(在染为紫色的滞留食物中可观察到染为粉红色的肠细胞组织碎片),直至最后肠细胞组织全部脱落、消融而仅剩下环肌层(图版 I:6)。 在切片中观察不到有纵肌存在,解剖时处理幼虫的中肠极易断裂,也证明纵肌受到了破坏。

饥饿 4 天后的幼虫中肠切片观察结果表明,肠中没有滞留食物残渣,围食膜依然存在,中肠细胞除只表现出稍有皱缩、分泌液滴增多外,并无其他明显的病变(图版 I:2)。

对取食川楝素24小时后的幼虫中肠组织用透射电子显微镜作了超微结构观察。发现处理试虫肠内各种细胞器均开始变形并被溶酶体包围而呈溶解状态(图版 2: B₂、B₃),光面内质网极度膨大(图版 2: B₄)。肠细胞底膜和环肌分离,环肌也变得层次不清(图版 2: B₁)。另外,在电镜观察中还可看到,肠内壁

本文于 1989 年 2 月收到。

^{*} 现在西北农业大学植保系工作。

微绒毛也开始消融,内壁组织中出现大而多的空泡。中肠的纵肌虽然还存在,但纵肌层次模糊,观察不到肌纤微和其他细胞器,与对照组标本观察结果相比表现出明显的病变。

从以上观察结果初步可以看出以下几个问题:

川棣素所引致试虫中肠组织病变与拒食饥饿作用无关。川棣素对菜青虫具有较强的拒食作用,可显著抑制其取食量(张兴等,1988)。但石蜡切片观察结果表明,饥饿了 4 天的幼虫中肠中无食物残渣滞留且组织完好,不表现出任何病变。 证明取食了少量处理饲料的幼虫中肠组织的病变并非因拒食饥饿所致。

围食膜的消失、肠内食物的滞留是破坏中肠组织的重要原因。处理试虫中肠内找不到有围食膜存在,但试验中常可看到有中毒试虫排出囊状物的现象。囊状物中包有绿色液体,触之即破。经解剖观察和分析,发现是围食膜从中肠前端和贲门瓣结合处脱落并向后退出,而从肛门排出体外的。中肠中食物的滞留是因为肠功能受到干扰而影响到正常的消化排泄,还是幽门瓣处发生生理病变而阻止食物残渣通过,还需进一步研究。但食物的滞留及围食膜的退出,致使中肠细胞组织直接和食物接触,甚至穿破中肠组织而进入血腔,而引起局部腐烂导致试虫迅速死亡。

中肠细胞的自溶是引起病变的主要原因。 电子显微镜观察结果表明,试虫取食了川楝素 24 小时后,中肠细胞开始发生变化。微绒毛消失,胞内出现大量空泡。溶酶体活动剧增,细胞器及细胞体发生自溶。这可能是引起后来中肠细胞脱落溶解的主要原因。但还需对引起自溶的某些水解酶(如酸性磷酸酯酶等)进行活性分析,以便进一步证实。

光面内质网形态上的病变和多功能氧化酶的活性有关。昆虫中肠中微粒体多功能氧化酶(MFO)是分解外源毒物的主要酶系。而光面内质四是微粒体的重要组成部分。电镜观察结果表明。光面内质网形态上的病变可能标志者生理功能的降低。在后来的 MFO 活性测定中也证实了这一点。由此可见。用棣素的致毒作用与此有密切关系。

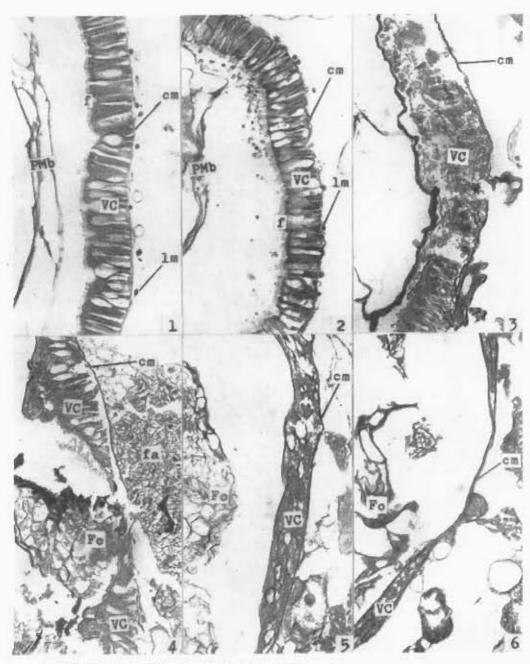
总之,通过对中肠组织较系统的观察,证明取食了川楝素后的菜青虫幼虫消化系统正常功能受到干扰,食物残渣滞留于中肠内而不能排出。中肠组织受到严重破坏而发生脱落、自溶。川楝素对中肠这一消化系统主要器官的影响是引起昆虫死亡的一个重要原因。

参考文献

张 兴、张民力、赵善欢 1988 棟属川棟紊合量与生物活性的关系。华南农业大学学报 9(4): 21-30。 赵善欢等 1985 应用天然植物产品川棟紊防治菜青虫试验。植物保护学报 12(2): 125-31。 赵善欢、张 兴 1987 植物性物质川棟紊的研究概况。华南农业大学学报 8(2): 57-67。

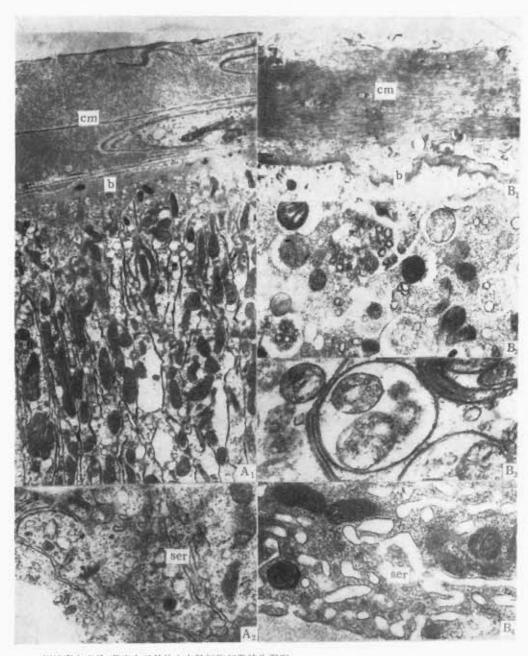
STUDIES ON THE HISTOPATHOLOGY OF THE MIDGUT OF CABBAGEWORM PIERIS RAPAE L. CAUSED BY TOOSENDANIN

ZHANG XING CHIU SHIN-FOON
(South-China Agricultural University, Guangahou 510642)



川神素中毒后,業产虫互除幼虫中肠组织变化情况。×350 1.对图 2.饥饿4天 3.肠细胞变界且混乱变形 4.肠细胞局部消除,食物即将穿透状 5.6 肠 细胞溶解,层落,局部化管下环机。

VC; 中肠细胞 1m; 纵肌 cm; 环肌 1; 微绒毛 Fo; 食物 fa; 脂肪体



川條素中潔后,葉青虫五幹幼虫中肠细胞超微结构观察

A: 对照 B: 处理

A: 环肌(cm),底膜(b)及加油内丰富的加油器×10000。

Az: 光面内质网(ser)×30000。

B₁; 环肌变形,底膜与环肌分离×10000。B₂; 被溶酶体包围的细胞器×1 5000。B₃; 同 B₃×30000。B₄; 膨大的光面内质阀×30000。